This Page Is Inserted by IFW Operations and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

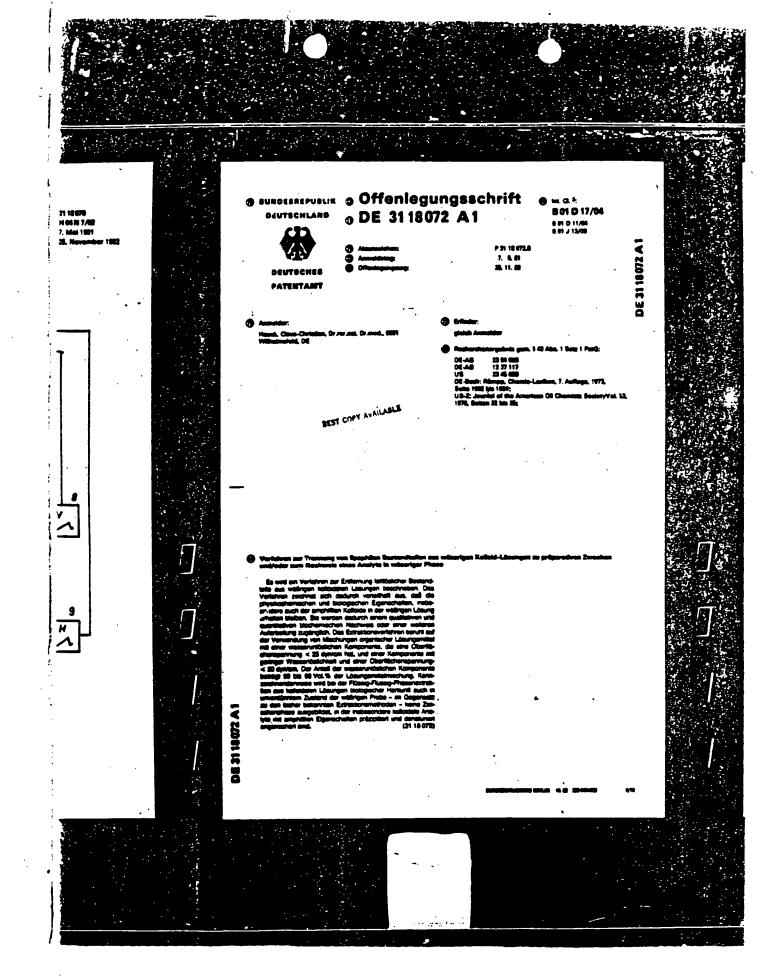
Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

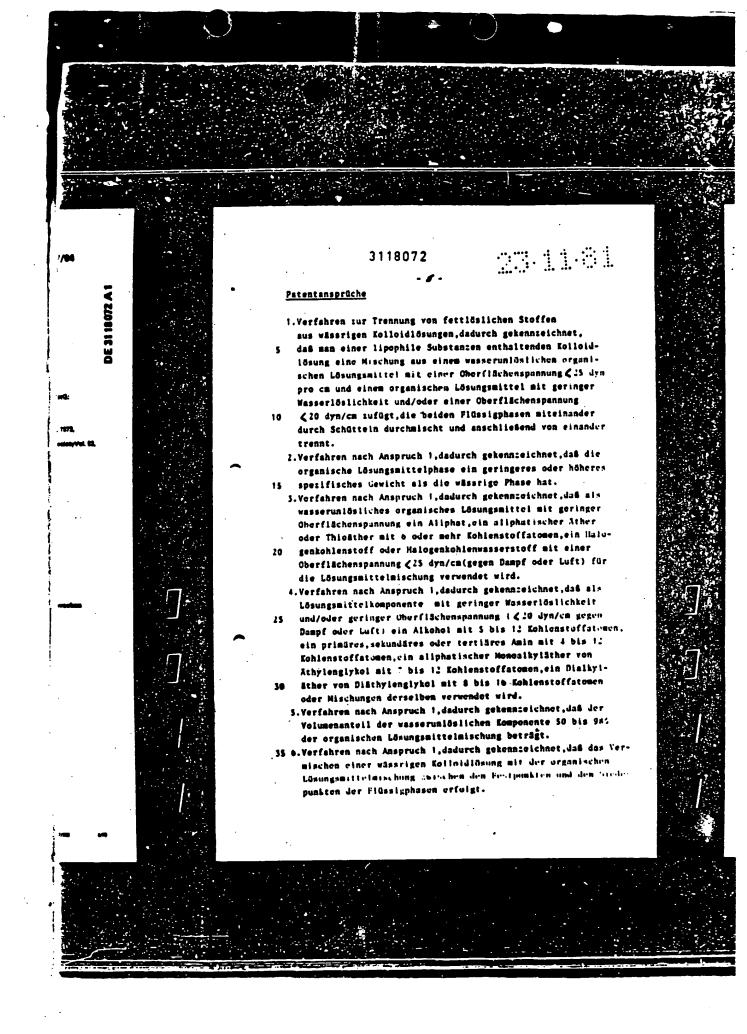
Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

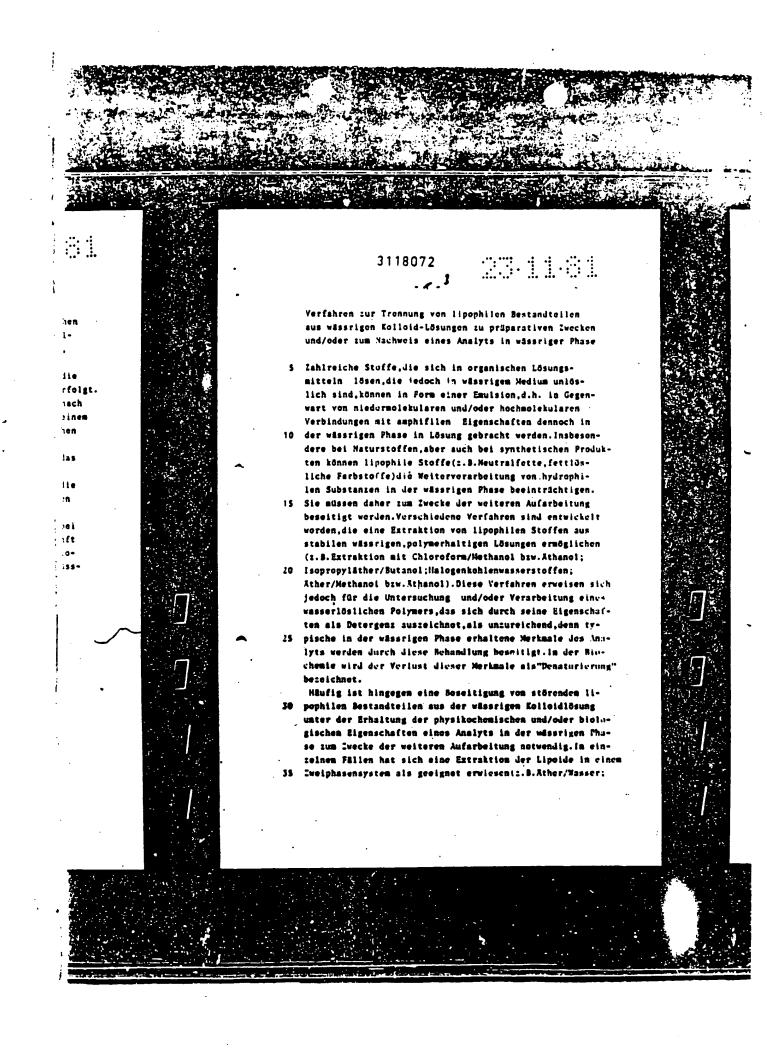
IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

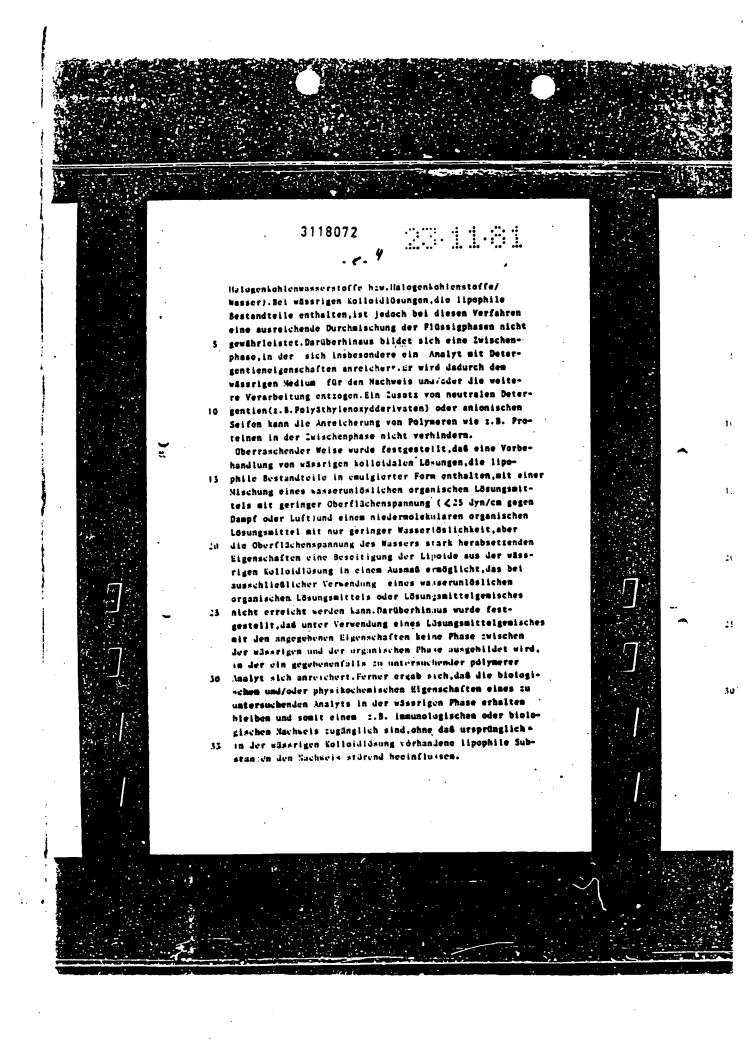
As rescanning documents will not correct images, please do not report the images to the Image Problems Mailbox.





3118072 7. Verfahren nach Anspruch I, dadurch gekennzeichnet, daß bei Kolloidlösungen biologischer Herkunft das Vermischen der wässrigen Lösung mit der organischen Lösungsmittelmischung bei einer Temperatur zwischen 4°C und 60,5°C, günstigenfalls :wischen 10°C und 41°C erfolgt. 8.Verfahren nach Anspruch 1,dadurch gekennzeichnet,daß die Durchmischung der Lösungen manuel: oder automatisch erfolgt. 9. Verfahren nach Anspruch 1. Jadurch gekennzeichnet, daß nach Durchmischung die Phasentrennung der Lösungen nach einem Verfahren erfolgt, das die unterschiedlichen spezifischen Dichten der Phasen berücksichtigt. 10. Verfahren nach Ansprüch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Abrichen der Phasen manuell oder automatisch erfolgt. 11. Verfahren nuch Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die wässrige einen Analyt enthaltende Phase zu analytischen oder präparativen Iwecken weiterverarbeitet wird. 12.Verfahren nach Anspruch I, dadurch gekennzeichnet, daß bei der Aufarbeitung von Flüssigkeiten biologischer Herkunft ein chemischer, biologischer, biochemischer oder immunologischer Nachweis eines Analyts in der delipidlerten wässrigen Phase ausgeführt wird. s Ver-Sude





3118072

Im Vergleich zu den erwähnten herkömmlichen Methoden zeichnet sich das Verfahren dadurch vorteilhaft aus,daß es in Anbetracht der nur geringen Mengen der zu verwendenden Lösungsmittelgemische für eine Aufarbeitung von Kolloidlösungen zeitersparend und weniger arbeitsintensivist,da sich für die weitere Aufarbeitung eines Analyts in der wässrigen Phase eine Beseitigung vom organischen Lösungsmittelbestandteilen erübrigt.

- 10 Folgende organische Lösungsmittel mögen als Vertreter ihrer Verbindungsklasse aufgeführt sein:
 - I. Organische Lösungsmittel mit geringer Löslichkeit in wässrigem Nedium und niederer Oberflächenspannung

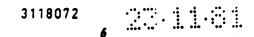
(CO dyn/cm) 15 CaHanem-OH n: 5-10;m:0 oder 2 CnH2n+m-NH2 n:4-12;m:0 oder 2 n:3-6 ;m:0 oder 1 (CnH2n+m)2NH (CnH2n+m)3N Larg-0 :a:0 oder 1 (C_nH_{2n+2}-0-CH₂CH₂-)₂0 C_nH_{2n+2}-(0-CH₂CH₂)₂-OH n: 4-6 ;m:0 oder 2 20 n:3-6 ;m:0 oder 2 CnH2n+2-CO-CmH2m+2 n:1-3 ;m:3-6

[II.Wasseruniösliche organische Lösungsmittel eit niedriger Oberflächenspannung (< 25 dyn/cm)</p>

Fluor-Chlorkohlenstoffe und Fluor-Chlorkohlenwasserstoffe Aliphate aliphatische Ather und Thioäther mit 6 der mehr Kohlenstoffatomen

• •

25



Folgende Beispiele mögen den Vorteil des neuentwickelten Verfahrens verdeutlichen:

Beispiel :

- 5 Jeweils 0,5 al Serum werden 10 Minuten mit 1ml des organischen Lösungsmittels a bzw.der Lösungsmittelmischungen b bis e geschüttelt. Anschließend wird zentrifugiert und aus der wässrigen Phase die Lipidkonzantration gemessen. Die Ergebnisse zeigen, daß bei alleiniger Verwendung des
- Fluor-Chiorkohlenstoffpolymer als organischesLösungsmittel eine unzureichende Lipidextraktion erreicht wird. Bei der Verwendung der angegebenen Lösungsmittelgemische (in Vol. Teilen) wird hingegen eine Extraktion von Triglycerid bzw. Cholesterin bis zu 883, für Phospholipid bis zu 853
- 15 erreicht
 - a. Fluor-Chlorkohienstoffpolymer (Frigen 113 Polymer)
 - b.Cyclohexanol/Frigen 113 Polymer (25/~5)
 - c.n-Hexanol /Frigen 113 Polymer (25/75)
 - d.1-Heptanol/Frigen 113 Polymer (25/75)
- 10 e.2-Heptanol/Frigen 113 Polymer (25/75:

				Triglycerid (mg/d)	Cholesteria (mg/dl)	Phospholic (mg/dl)pid	
	Serum nativ			1070	510	356	
23	" n. Extraktion a		a	\$10	254	164	
		. Extraktion		.5.4	•	98	
			ě	34	10	55	
		٠.	J	30	13	45	
		٠.	•	34	13	84	

14

ſe

3118072

Beispiel 2 Extraktion von Lipiden in wässriger Kolloidiösung mit anderen als in Beispiel 1 angogobenen Lösungsmittelmischungen.0,5 ml Serum wird mit 0,7 ml eines 5 organischen Lörungsmittels bzw. einer Lösungsmittelmischung in der gleichen Weis: beharweit, wie in Beispiel 1 beschrieben.Die Ergebnisse zeigen den wesentlich höheren Effekt der angegebenen Lösungsmittelgemische bei der Lipidextraktion gegenüber den reinen wasserunlöslichen 10 LösungsmitwinDie in Klammern angegebenen Quotienten kennzeichnen das Mischungsverhältnis der Volumina der

einzelnen Lösungsmittelkomponenten.

oli-

			Triglycerid (mg/dl)	(mg/dl)	(34:41 - 14
13	Serum	nativ	653	290	351
		• CF3CC13*	151	101	80
	Serve	· Frigen 113 Pol.	107	64	109
20	Se rum	+ CF ₃ CCl ₃ / n-Hexylamin(95/5 + CF ₃ CCl ₃ /Dilehy-		16	21
••		lengive (monobuty Sther(89/20)	17	17	29
	•	• CF ₃ CC1 ₃ / n-Hexanul(75/25)*	33	24	nt _
: 3		+ CF3CC13/Dlathy- lengtykaldlathyl- ather (95/5)	9:	57	13#
3 0		+Frigen 113 Polym n-Hexylamin(95/5) +Frigen 113 Polym	17	13	:0
		Disthylenglykolmonobutylither(80/	9 - 20) •	15	51
· 35	•	•Frigen 113 Polym n-Hexanol (75/25) 31	20	RO
	•	*Frigen 113 Poly Disthylenglykold Sthylstherts0/20 ing/ügige hiseisp	i- 1 83	5.5 in the fairs	n l hammha se

3118072 Beispiel 3 Extraktion von Lipiden in Flüssigphase mit Hilfe weiterer Lösungsmittel bzw.Lösungsmittelgemische.Das Mischungsverhält-5 his beträgt 0,5 ml Serum und 0,7 ml organisches Lösungsmittel. Die in Klammern angegebenen Quotienten Kennzeichnen das Hischungsverhältnis der Volumina der organischen Lösungsmittelkomponenten.Die Tabelle veranschaulicht den deutlich wirksameren Effekt der Lipidextraktion bei der Verwendung der angegebenen 10 Lösungsmittelgemische. Triglycerid Cholesterin Phosholipid (mg/-11) * (mg/d1)(mg/d1) 171 Serus nativ 18.3 ** Serum . n-Hexan . 170 180 14 in Serum . Ulisopropyläther* 161 de Serum +n-Hexan/n-Hexylamin ζe (95/5) ____. 15 s e Serum .Diisopropylather/ Di n-Hexylamin (95/5) 11 Serum +n-Hexan/Diathylenglyan kolmonohutyläther . (90/10) 20 . 1: fa. Serus . Dissopropyläther/Di-It by Lenmonobuty Litther γ pi: (90/10)_ ١, Serum + CF3CC13/n-Octylamin tr 25 (95/51 1) nac Serum +CF,CC1,/n-Hexylamin geringfügige Elweisprätipitation in der Zwischen-Phase

